

Ueber das
Wachsthum von Mikroorganismen
bei Eisschränktemperatur.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

hohen medicinischen Facultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

H. HAVEMANN

approb. Arzt aus Dobbertin.

ROSTOCK.

Carl Boldt'sche Hof-Buchdruckerei.

1894.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Unter den zahlreichen Factoren, die das Wachsthum der Mikroorganismen beeinflussen, spielen die chemische Beschaffenheit des Nährbodens, die Feuchtigkeit, das Licht und die Luft eine grosse Rolle. Selbstverständlich sind diesen gegenüber auch die verschiedenen Arten von Mikroorganismen in ihren Ansprüchen ausserordentlich verschieden. Während die einen am besten auf Gelatine wachsen, gedeihen die andern ausschliesslich oder doch sehr viel besser auf Agar-Agar, Kartoffeln und dergl. Während die einen nur bei Anwesenheit von Sauerstoff sich zu entwickeln vermögen, kommen andere nur bei Luftabschluss fort. Diese Abhängigkeit der Mikroorganismen von gewissen äusseren Factoren giebt sich jedoch nicht nur im Wachsthum kund, sondern auch in anderen Lebenserscheinungen, z. B. in der Gasproduction, der Verflüssigung des Nährbodens, der Farbenproduction, der Virulenz etc.

Zu solchen Factoren, von denen die Mikroorganismen in allen ihren Lebensäusserungen abhängig sind, gehört auch die Temperatur, in der sie sich befinden.

Wie für alle lebenden Wesen, so giebt es auch für sie eine obere und untere Temperaturgrenze, jenseits deren sie sich nicht mehr entwickeln können. Diese beiden Grenzen nennt man das Temperaturmaximum resp. -minimum für den betreffenden Mikroorganismus.

Zwischen beiden liegt das Temperaturoptimum, wie man diejenige Temperatur bezeichnet, bei welcher ein bestimmter Mikroorganismus am üppigsten und raschesten wächst. Die erwähnten äussersten Grenzen sind nun lediglich auf das Wachsthum der Mikroben zu beziehen, sie stellen also die Temperatur dar, bei der die Production neuer vegetativer Formen sistirt; für ihre Fähigkeit fort zu leben, liegen die Grenzen erheblich weiter auseinander; so können z. B. nach neueren Untersuchungen die Cholerabacillen, deren untere Wachsthumsgrenze etwa bei $+16^{\circ}$ C. liegt, noch bei -25° C. tagelang existiren, ohne abzusterben.

Die in Rede stehenden Wachsthumsgrenzen sind für die verschiedenen Mikroorganismen durchaus verschieden; jede besondere Art hat auch ihr besonderes Temperaturmaximum, -optimum, -minimum, so dass es z. B. unmöglich ist, eine bestimmte Temperatur als das Temperaturoptimum für Mikroorganismen zu bezeichnen. Der störende Einfluss, den hohe und niedere Temperaturen auf die Mikroben ausüben, ist nun seit langem praktisch benutzt worden, überall da, wo es darauf ankam, diese kleinsten Organismen in ihrer verderblichen, zersetzenden Wirkung zu sistiren, sie zu tödten oder doch in ihrer Weiterentwicklung zu hemmen. So hat man, lange bevor man etwas von der Existenz der Mikroben wusste, rein empirisch kühle Keller zum Conserviren von leicht zersetzlichen Nahrungsmitteln benutzt, so hat uns andererseits die bacteriologische Forschung als vorzüglichstes Sterilisationsmittel die Siedehitze erkennen lassen, und als solches ist sie ja, wie bekannt, in ausgedehntem Maasse in Gebrauch.

Weshalb nun zum Abtödten von Mikroorganismen, — so bei der Sterilisirung von Lebensmitteln, bei der Desinfection chirurgischer Instrumente u. s. w. — lediglich die hohen Temperaturen angewendet werden, ist leicht erklärlich. Dass auch Kälte, wenn sie nur

intensiv genug ist, die Mikroben zu vernichten vermag, ist wohl sicher; während jedoch in jedem Hause mit Leichtigkeit sich eine Temperatur von 100° C und auch darüber erzeugen lässt, so ist es schon mit grösseren Schwierigkeiten verbunden und erfordert andauernd grosse Aufmerksamkeit, wenn man eine Temperatur von auch nur wenig unter 0° oder von 0° selbst erhalten will. Und weiter, während die Siedehitze, besonders in ihrer wiederholten Anwendung, allen Anforderungen für eine absolute Sterilisation genügt, ist eine Temperatur von 0° für diesen Zweck durchaus ungenügend. Neuere Untersuchungen haben nämlich, wie oben schon angedeutet, ergeben, dass es Bacillen giebt, die bei der für unsere Breitengrade schon excessiven Kälte von -25° C. noch tagelang existiren können, und endlich würden die reproductiven Dauerformen der Bacillen, die Sporen, zu ihrer Abtödtung noch wieder weit niedrigere Temperaturen erfordern.

Wenn wir somit in der Kälte auch kein so heroisch wirkendes Antiparasiticum haben, wie in der Wärme, so ist sie uns doch durch ihre conservirende Wirkung im Eiskeller und Eisschrank geradezu unentbehrlich geworden. Und diese conservirende Wirkung erklärt sich lediglich aus ihrem Einfluss auf das Gedeihen kleinster Organismen. Dass es einen solchen entwicklungshemmenden Einfluss der Kälte gebe, weiss man schon längst, und die Existenz einer unteren Wachstumsgrenze für die Mikroben ist ebenfalls allgemein bekannt. Die Frage dagegen nach der Einwirkung solcher niederer Temperaturen, wie sie etwa im Eiskeller oder im Eisschrank herrschen, auf das Wachstum der verschiedenen Mikroorganismen hat noch nicht ausreichende Beantwortung gefunden.

Die meisten der gebräuchlichen Lehrbücher der

Bacteriologie gehen rasch über diese Frage fort und erwähnen nur hie und da, dass dieser oder jener Coccus oder Bacillus am besten bei Zimmer- resp. Brüttemperatur wachse und dergl. Andere geben wiederum einige bestimmtere Daten, die jedoch auch keineswegs auf Vollständigkeit Anspruch machen können. So sagt Flügge in seinem Lehrbuche von den Mikroorganismen: „Die Lage der unteren und oberen Grenze ist für jede Art verschieden. Für manche Saprophyten (die Wasserbakterien, das unter Bact. termo früher zusammengefasste Gemenge u. s. w.) ist noch bei einer Temperatur von $+6^{\circ}$ geringe Vermehrung zu constatiren, und erst $+4^{\circ}$ bis 5° hemmen die Entwicklung. Das Spirillum cholerae asiaticae findet dagegen schon bei $+15^{\circ}$ bis $+16^{\circ}$ C. seine untere Grenze.“

An anderer Stelle erwähnt er: „Weiter ist eine gewisse mittlere Temperatur Bedingung der Spaltpilzentwicklung“ „Nach Eidam's Versuchen über die Entwicklung von Bact. termo in Cohn'scher Nährlösung beginnt diese bei $+5\frac{1}{2}^{\circ}$, nimmt mit steigender Temperatur erst langsam, von 10° an rasch zu Unter 10° geht die Entwicklung (des Essigsäurepilzes) mit äusserster Langsamkeit vor sich; für den Bacillus subtilis fand Brefeld bei 6° eine langsame Vegetation.“

Bei seiner Beschreibung der Schimmelpilze sagt Flügge: „Penicillium glaucum vegetirt noch bei relativ niedriger Temperatur (bei $+2,5^{\circ}$), die sich wenig über den Gefrierpunkt erhebt.“

In seinem Capitel über Sprosspilze schreibt derselbe Autor: „Als bedeutsames Moment für das Wachsthum von Hefe zeigt sich die Temperatur“. „Bei Erniedrigung der Temperatur kommt es zu einem langsamen Abnehmen des Wachstums, sodass selbst in der Nähe des Gefrierpunktes noch geringfügige Vegetation stattfindet.“

Die also mehrmals bei Flügge erwähnten Erfahrungen Eidam's über *Bact. termo* führt auch Zopf in seinen „Spaltpilzen“ an und fügt weiter hinzu: „Bei Temperaturen unter 0° entwickelt sich auch der Harnpilz nicht mehr. Nach Horvath kann die genannte Spaltpilzform bis -18° C. vertragen. Eingefrorene Spirillen beginnen bei allmählicher Steigerung der Temperatur wieder ihre charakteristischen Bewegungen anzunehmen. Nach eigenen Versuchen vertragen mit Gallertscheiden versehene *Crenothrix*fäden eine mehrwöchentliche Temperatur von -8° R. gleichfalls ohne Schaden. Aehnliches gilt für den Pilz der blauen Milch nach Fuchs und Haubner. Nach R. Koch hält auch der Cholerapilz eine 1stündige Temperatur von -10° C. ganz gut aus.“

Die meiste Beachtung in Bezug auf die vorliegende Frage ihres Temperaturminimums haben jedenfalls die eben erwähnten Choleraspirillen gefunden, und es lässt sich in der Jetztzeit eine gewisse actuelle Bedeutung dieser Frage nicht leugnen. Während sich jedoch die meisten Forscher darüber einig sind, dass für die Cholerabacillen das Temperaturoptimum zwischen 35° und 40° liegt, und ein Erhitzen auf mehr als 65° sie abtödtet, ist die Ansicht über ihr Temperaturminimum sehr getheilt. C. Fränkel, Grundriss der Bacterienkunde, sagt vom *Commabacillus*: „Unter 15° C. versagt er.“ Riedel, die Cholera, meint: „Im Allgemeinen hört unter 16° C ein merkliches Wachstum der Bacillen auf (ohne dass dieselben dabei ihre Lebens- und Vermehrungsfähigkeit einbüssten, welche ihnen sogar noch nach längerem Eingefrorensein erhalten bleiben).“

Während so diese und andere Autoren gleich R. Koch als Temperaturminimum für das Wachstum der Cholerabacillen etwa 16° C. angaben, existiren Beobachtungen anderer Autoren, welche eine tiefere Grenze zu beweisen scheinen.

Nach van Ermengem findet, wie Ziegler im allgemeinen Theil seiner pathologischen Anatomie mittheilt, schon zwischen 8° und 16° ein kümmerliches Wachsthum der Choleraspirillen statt.

C. Fränkel fand, wie B. Fischer in der Deutschen medicinischen Wochenschrift Nr. 23, Jahrgang 1893, angiebt, dass Cholerabacillen in $1\frac{1}{2}$ m Tiefe im Erdboden bei höchstens 10° C innerhalb von 18 Tagen in Rollröhrchenculturen noch gewachsen waren.

Ueber seine eigenen Versuche sagt B. Fischer: „Als von einer frischen Choleracultur Rollröhrchen angefertigt wurden, und dieselben in einen 14 m tiefen Brunnen gebracht waren, woselbst die Temperatur längere Zeit hindurch $9,0^{\circ}$ C. betrug, liess sich nach 8 Tagen mit Hülfe des Mikroskops deutlich Wachsthum nachweisen.“

Derselbe Autor berichtet in Nr. 25 der Deutschen medicinischen Wochenschrift, Jahrgang 1893, über einen geschwürbildenden Commabacillus, der bei 0° C. noch wächst. Ueber den Bac. Finkler-Prior's erwähnt er dabei, dass bei $+9^{\circ}$ C. es 5 Tage dauert, bis Wachsthum deutlich geworden sei, bei $+4,0^{\circ}$ C. — 6 Tage, und dass derselbe bei 0° nicht mehr wachse.

Uffelman berichtet in der Berliner klinischen Wochenschrift Nr. 7, Jahrgang 1893, dass die Cholerabacillen bis $-24,8^{\circ}$ C. überstanden und noch 5 Tage lang vermehrungsfähig blieben.

Zu einem ähnlichen Resultat kam Renck (Fortschritte der Medicin, Nr. 10, 1893); er constatirte, dass erst nach 3 Tagen ununterbrochener Frosteinwirkung alle Cholerabacillen abgetödtet waren.

Die ausführlichsten Arbeiten über das Wachsthum der Mikroben bei Kälte haben Forster und Fischer geliefert.

Die von Forster im Centralblatt für Bacteriologie Bd. 12 Nr. 13 veröffentlichten Befunde waren folgende:

„Es giebt nur wenige Bacteriensorten, die bei 0° zu wachsen vermögen“ und zweitens: „von diesen Sorten entwickeln sich meistens sehr viele Individuen.“ Das Material, aus dem die von Forster gefundenen Bacterien gezüchtet wurden, bestand aus Kehrlicht, Abfallstoffen, Nahrungsmitteln, Sielwasser, kurz: allen möglichen Fundorten für Mikroorganismen wurde das Untersuchungsmaterial entnommen.

Derselbe Autor hatte schon vor mehreren Jahren für einen photogenen Bacillus die Wachsthumsmöglichkeit bei 0° erwiesen.

Aehnliche Untersuchungen stellte Fischer an, deren Resultate er im Centralblatt für Bacteriologie Bd. 4, Nr. 3, veröffentlichte. Er gab zunächst Forster Recht bezüglich seiner Beobachtung über das Wachsthum des Bact. phosphorescens, fügte aber hinzu, dass auch der einheimische Leuchtbacillus bei 0° zu wachsen vermöge. Die Resultate, die er weiterhin gefunden hatte, waren folgende: 14 verschiedene Arten von Mikroorganismen konnte er rein züchten, die bei 0° noch deutliches Wachsthum zeigten. 5 derselben stammten aus dem Wasser des Kieler Hafens, die 9 anderen aus den oberflächlichen Erdschichten; unter den letzteren war auch ein Schimmelpilz vorhanden.

So ist denn über die oben aufgeworfene Frage die Litteratur nur ziemlich dürftig und wenig ausführlich mit Ausnahme der beiden zuletzt angeführten Arbeiten von Forster und Fischer. Wenn nun diese beiden Arbeiten auch sehr interessante und neue Resultate zu Tage gefördert haben, so machte doch der Umstand, dass im praktischen Leben zur Conservirung von Lebensmitteln meist eine nicht so niedrige Temperatur angewandt wird, wie es bei jenen Arbeiten geschah, — in den meisten Eisschränken und guten Hauskellern beträgt die mittlere Temperatur gegen -7°C — es wünschenswerth, dass auch über das Wachsthum von

Mikroorganismen bei dieser Temperatur Untersuchungen angestellt würden.

Derartigen Untersuchungen ist aus wissenschaftlichen sowohl wie aus praktischen Gründen eine gewisse Bedeutung zuzugestehen: So kann das verschiedene Verhalten der einzelnen Bacterienarten bei der in Frage stehenden Temperatur uns als Unterscheidungsmittel ähnlichen Mikroben gegenüber dienen; wir werden sehen, dass die einander sonst so ähnlichen Cholera- und Finkler-Priorschen Bacillen in diesem Punkt ganz erheblich von einander abweichen. Und weiter hat es vom gesundheitlichen wie wissenschaftlichen Standpunkte aus Interesse, zu erfahren, wie die Mikroben, speciell pathogene, von jener Temperatur beeinflusst werden.

Im hygienischen Institut zu Rostock wurden nun eine Reihe solcher Untersuchungen von mir ausgeführt. Im Nachstehenden sollen sie kurz beschrieben werden.

Der für diese Untersuchungen benutzte Eisschrank bestand aus dem Eisbehälter, der 1 mal täglich gefüllt ward, und dem Einstellungsraum, der in gewöhnlicher Weise gegen die Aussenluft abgeschlossen war. Die Versuche wurden angestellt im Hochsommer; da die Aussentemperatur während dieser Zeit eine ausserordentlich hohe war, so genügte die einmalige Füllung nicht, um eine constante Temperatur zu haben, sondern es musste 3 bis 4 mal täglich frisch aufgefüllt werden; ausserdem wurde auch direct in den Einstellungsraum ein Quantum Eis gebracht, um die Temperatur constanter zu halten. Auf diese Art und Weise gelang es, eine beständige Temperatur von $+4^{\circ}$ bis $+7^{\circ}$ C. (ausnahmsweise $+8^{\circ}$ C.) zu erzielen. Die Controle des ständig eingesetzten Thermometers fand täglich mindestens 4, oft 6 mal statt und ergab eine zwischen jenen Grenzen schwankende Constanz der Temperatur. Die höheren Grade fanden sich meist nur dann,

wenn der Eisschrank zwecks Einstellung resp. Herausnahme von Untersuchungsobjecten kurze Zeit hatte geöffnet werden müssen. Ein Maximal- und Minimalthermometer, welches eine Zeit hindurch benutzt wurde, gab dieselben Grenzen an.

Bei den anzustellenden Versuchen waren nun verschiedene Punkte zu berücksichtigen. Aus wesentlich bacteriologischem Interesse war es nöthig, alle im Institut in Reinculturen vorhandenen Mikroben der Eisschranktemperatur auszusetzen und dabei genau ihr Verhalten zu beobachten und zu verzeichnen. Vorwiegend praktische Gesichtspunkte erforderten weiterhin, dass man in Analogie des conservirenden Kellers oder Schrankes im alltäglichen Leben eine freie Gelegenheit bot für die Ansiedlung und Entwicklung von Mikroben. Es war deshalb nöthig, Nährböden bei der betreffenden Temperatur offen der Luft auszusetzen, und ferner musste, da die Mikroben in ihren Ansprüchen an die Beschaffenheit des Nährbodens sich durchaus nicht gleichen, auch diesem Verhalten Rechnung getragen werden durch Versuche mit verschiedenen Nährböden. Die letzteren Versuche gestalteten sich aus verschiedenen Gründen umständlicher als die ersten mit Reinculturen angestellten. Als Nährböden wurden gewählt: Milch, Fleisch, Kartoffeln, Gelatine. Da nun von diesen Fleisch und Kartoffeln sehr stark der Austrocknung an ihrer Oberfläche, auf der sich ja die Mikroben niederlassen und entwickeln mussten, ausgesetzt waren, so wurde nach Möglichkeit versucht, die Binnenluft des Eisschranks feucht zu halten; zu diesem Zweck wurde von Zeit zu Zeit Wasser auf den mit Fliesspapier bedeckten Boden des Eisschranks gegossen, oder es wurde die Oberfläche der in Rede stehenden Nährböden auch direct mit sterilem Wasser befeuchtet.

Weiter mussten der genaueren Beobachtung halber mit den auf den verschiedenen Nährböden gedeihenden

Mikroben Culturen angelegt und mikroskopische Untersuchungen angestellt werden, um ihre systematische Zugehörigkeit zu bestimmen.

Auch von den in Reincultur der Eisschranktemperatur ausgesetzten Mikroben wurden mikroskopische Präparate angefertigt, aber, da sie ihrer Natur nach ja bekannt waren, nur zu dem Zweck, um eine vielleicht unter dem Einfluss der Kälte aufgetretene Aenderung in Form und Aussehen der einzelnen Zellindividuen constatiren zu können.

Bei der Untersuchung über das Gedeihen der Mikroben bei der Eisschranktemperatur spielte jedoch das Mikroskop keine Rolle, sondern es wurde als Kriterium lediglich das makroskopische Sichtbarwerden der Colonien angesehen und verwendet.

Wir geben die Versuche in der Reihenfolge wieder, in der sie angestellt wurden: zuerst die Versuche mit den offen ausgestellten Nährböden, sodann die mit den Reinculturen.

A. Versuche mit offen ausgestellten Nährböden.

1. Mit Milch.

Es wurde ein Quantum Kuhmilch durch 2 maliges Erhitzen in strömendem Wasserdampf keimfrei gemacht. Diese keimfreie Milch wurde in einer offenen Schale in den Eisschrank gesetzt; am dritten Tage wurde von ihr je 1 Tropfen dreien Reagensgläsern mit verflüssigter Nährgelatine zugesetzt und so drei Rollculturen angelegt. Diese drei Rollculturen kamen wiederum in den Eisschrank. Nach 6 Tagen zeigten sich zahlreiche Colonien in allen 3 Röhrchen. Schimmelpilze waren am stärksten vertreten, sodann auch Coccen und Bacillen in grosser Zahl, wie die mikroskopische Untersuchung ergab; in zweien der Röhrchen waren auch Sprosspilze (rosa Hefe) zur Entwicklung gekommen.

Verflüssigt hatte zu dieser Zeit noch keine der Colonien; auch späterhin war die Verflüssigung, wo sie eintrat, keine sehr energische.

Die von den gewachsenen Colonien angelegten Reinculturen wuchsen bei Zimmertemperatur in 2—3 Tagen.

Die gleichen Versuche wurden nun ferner angestellt mit Milch, die nicht sterilisirt war. Die Resultate waren sehr ähnlich, nur trat diesmal der specifische Schimmelpilz der Milch, das *Oidium lactis*, in allen 3 Röhrchen in mehreren Colonien auf; auch das Auftreten von Sprosspilzen (rosa Hefe) war hier häufiger.

2. Versuche mit Fleisch.

Es wurden zwei Stücke Rindfleisch eine halbe Stunde lang gekocht und darauf in sterilen Porzellschalen in den Eisschrank gesetzt. Dabei wurde, wie schon oben erwähnt, nach Möglichkeit das Austrocknen der Stücke hintanzuhalten versucht, was jedoch nicht ganz gelang.

Nach 5 Tagen wurde von der Oberfläche beider Stücke ein Partikelchen mit steriler Lancette entfernt und damit eine Rollcultur angelegt. In beiden Culturgefässen entwickelten sich bei Zimmertemperatur in 2 Tagen zahlreiche Colonien und zeigten sich durchweg aus *Staphylococcen* bestehend.

Eine Rückimpfung dieser Coccen auf das stets in der Eisschranktemperatur befindliche Fleisch liess innerhalb von 6 Tagen deutliche gelbe Rasen entstehen; auch auf Kartoffelscheiben überimpft wuchsen diese Coccen in der gleichen Zeit zu gelblichen Belegen aus.

Auf dem einen der beiden Fleischstücke zeigten sich 5 Tage nach der Einbringung in den Eisschrank mehrere kirschrothe Stellen, von etwa Stecknadelkopfgrosse. Da es sich hier vielleicht auch um eine unabsichtliche Farbstoffübertragung von aussen her hätte

handeln können, so musste eine diesbezügliche Untersuchung mittelst des Spectrums vorgenommen werden. Sie gab ein negatives Resultat, und es war darnach anzunehmen, dass die rothe Farbe auf Anwesenheit und Wirkung von Mikroorganismen beruhe, wie ja auch der *Bacillus prodigiosus* jene rothen Flecke auf Brot u. s. w. hervorruft. Bei der mikroskopischen Untersuchung der rothen Flecke wurden denn auch mässig grosse, ziemlich dicke Stäbchen gefunden, die einzeln von einer Zoogloeaschicht umgeben waren und haufenweise zusammenlagen. Zwischen den Haufen lagen hie und da die oben erwähnten Coccen. Leider war es nicht möglich, die Stäbchen in Reincultur zu erhalten: in den verschiedenen Gelatineculturen, die zu diesem Zweck angelegt wurden, wuchsen nur die Coccen, nicht die Bacillen.

8 Tage nach Einstellung beider Fleischstücke ergab die Untersuchung ihrer Oberfläche zahlreiche Colonien von Schimmelpilzen, sowie graugelbliche Beläge von Coccen und Bacillen verschiedener Form.

Gelatineculturen, die jetzt mit den der Oberfläche entnommenen Partikelchen angelegt wurden, zeigten bei Zimmertemperatur rasch wachsende Colonien, verflüssigten sich schon nach 2–3 Tagen und entwickelten dabei einen starken Fäulnissgeruch.

Nachdem die Fleischstücke 12 Tage lang im Eisschrank gewesen waren, machte sich an ihnen ein deutlich fauler Geruch bemerkbar, der natürlich auf der Wirkung von Fäulnissbakterien beruhte. Nach wenigen Tagen hörte dieser wieder auf, wahrscheinlich, weil die inzwischen ziemlich vorgeschrittene Austrocknung eine Weiterentwicklung der Fäulnisserreger hinderte.

7 Tage nach der Einstellung in den Eisschrank war eines der Fleischstückchen geimpft worden mit einem aus einer Brunnenuntersuchung stammenden,

stark verflüssigenden Bacillus, aber auch nach längerer Zeit entwickelte sich an den Impfstellen kein Belag oder dergl. Das Fleisch war allerdings zu dieser Zeit schon ziemlich trocken.

3. Versuche mit Kartoffeln.

Zwei Kartoffeln wurden mit scharfer Bürste gereinigt, in strömendem Wasserdampf eine halbe Stunde lang gekocht, sodass sie gar wurden. Alsdann wurden sie mit einem sterilen Messer halbirt und die Theilstücke der Eisschranktemperatur ausgesetzt. Durch Ausgiessen von Wasser auf die Unterlage gelang es ziemlich, diese Kartoffelscheiben vor dem Austrocknen zu bewahren.

Nach 8 Tagen waren deutlich zahlreiche Pilzansammlungen auf den Scheiben sichtbar geworden. Bei der Untersuchung ergab sich, dass dies lediglich Schimmel- und Sprosspilze waren. Diese Ansammlungen fanden sich auf allen 4 exponirten Scheiben in mehr oder minder erheblicher Zahl. Nachdem die Scheiben 14 Tage hindurch der Eisschranktemperatur ausgesetzt gewesen waren, kamen auch andere Colonien zum Vorschein: graue und gelbliche Beläge, deren einige über einen grossen Theil der Scheibe sich ausbreiteten. Doch traten solche Colonien nur bei 2 Scheiben auf, die beiden anderen waren von Schimmel- und Sprosspilzen dicht bedeckt. Diese späten Colonien bestanden aus Staphylococcen und Stäbchen verschiedener Form. Gelatinestrichculturen, die von letzteren angelegt wurden, wurden bei Zimmertemperatur in ganz kurzer Zeit flüssig und entwickelten einen sehr starken Fäulnissgeruch.

4. Versuche mit Gelatine.

Zwei durch Ausglühen sterilisirte Petri'sche Schalen wurden mit einer Schicht von Nährgelatine beschickt und dann offen in den Eisschrank gestellt.

Nach 8 Tagen zeigten sich auf der einen mehrere Schimmelcolonien, und nach 14 Tagen einige wenige rothe Punkte, die sich bei mikroskopischer Untersuchung als Colonien von rosa Hefe darstellten. Eine grössere Ausbreitung erreichten weder die Schimmel- noch die Sprosspilze.

Auf der zweiten Gelatineplatte war auch nach längerer Zeit (20 Tagen) eine Pilzansammlung nicht zu bemerken.

Im Anschluss an die mit den verschiedenen Nährböden gemachten Versuche, bei denen lediglich die in der Luft vorhandenen Mikroben in Betracht kamen, wurden nun auch

5. die im Sielwasser und den oberen Erdschichten befindlichen Mikroben auf ihre Entwicklungsfähigkeit bei der Eisschranktemperatur geprüft.

Der im Reagensrohr verflüssigten Nährgelatine wurde 1 Tropfen des Rostocker Sielwassers zugesetzt, eine Rollcultur damit angelegt, und diese der Eisschranktemperatur ausgesetzt.

Nach 4 Tagen zeigten sich zahlreiche Colonien, die aus den verschiedensten Coccen und Stäbchen bestanden. Verflüssigende zeigten sich erst nach 8 Tagen. Schimmel- und Sprosspilze waren nicht gewachsen.

Ein Controlversuch ergab dasselbe Resultat.

Weiter wurde der im Reagensrohr verflüssigten Gelatine ein minimales Quantum Erde — den obersten Schichten Gartenerde des zum hygienischen Institut gehörigen Gartens entnommen — zugesetzt, eine Rollcultur angelegt, und diese in den Eisschrank gebracht.

Nach 5 Tagen waren zahlreiche Colonien gewachsen, meist aus Coccen und Bacillen bestehend; daneben fanden sich auch Spross- und Schimmelpilze. Von den Colonien waren einige — Stäbchen enthaltend — schon verflüssigt; als von diesen Strichculturen

angelegt und in Zimmertemperatur ($+ 22^{\circ}$ C.) aufbewahrt wurden, verflüssigten sie schon nach 24 Stunden recht stark und entwickelten deutlichen Fäulnisgeruch.

Auch hier ergab ein Controlversuch dasselbe Resultat.

Weiterhin wurden analog den Versuchen von Forster und Fischer Rollculturen von Sielwasser und Erde wiederum angelegt und nun der Temperatur des Eisschmelzwassers (0°) ausgesetzt.

Nach 8 Tagen waren zahlreiche Colonien gewachsen und zeigten bald darauf deutliche Verflüssigung: die der Erdcultur etwas früher als die aus dem Sielwasser gewonnenen.

Ein Controlversuch bestätigte das gefundene Resultat. Schimmel- und Sprosspilze wurden nicht gefunden. Es folgten nunmehr

B. Versuche mit Reinculturen.

Von einer Anzahl von Mikroorganismen, die theils den Schimmel- und Sprosspilzen, in ihrer Mehrzahl aber den Spaltpilzen angehörten, wurden Strichculturen auf Nährgelatine angelegt und in den Eisschrank gebracht. Bei einigen wurden noch Controlculturen angelegt.

Wir lassen die Versuche mit den nicht pathogenen Spaltpilzen vorangehen; alsdann folgen die mit den pathogenen Spaltpilzen und endlich die mit den Schimmel- und Sprosspilzen angestellten Versuche.

a. Versuche mit nicht pathogenen Spaltpilzen.

1. Der *Micrococcus prodigiosus*.

Derselbe war nach 7 Tagen sehr üppig gewachsen, hatte die Gelatine energisch verflüssigt und weiterhin den bekannten rothen Farbstoff producirt.

2. Der *Bacill. violaceus*.

Derselbe war nach 6 Tagen üppig gewachsen, hatte die Gelatine ziemlich verflüssigt und seinen gewöhnlichen Farbstoff producirt.

3. Der *Bacill. ramosus*.

Derselbe war nach 6 Tagen gut gewachsen und hatte dabei die Gelatine in geringem Grade verflüssigt.

4. Der *Bacill. viridis luteus* von *liquefaciens*.

Derselbe war nach 7 Tagen üppig gewachsen, hatte die Gelatine nicht verflüssigt und eine prachtvoll hellgrüne Fluorescenz hervorgerufen.

4a. Eine Wiederholung dieses Versuches ergab das nämliche Resultat schon nach 5 Tagen.

5. Das *Bact. coli commune*.

Dasselbe war nach 6 Tagen nur wenig gewachsen und hatte nicht verflüssigt.

6. Der *Kartoffelbacillus*.

Derselbe war nach 5 Tagen noch nicht gewachsen.

7. Die *Sarcina flava*.

Dieselbe war nach 7 Tagen nur gering gewachsen; es zeigte sich noch keine Verflüssigung der Gelatine.

8. Die *Sarcina rubra*.

Dieselbe war nach 6 Tagen noch nicht merklich gewachsen.

8a. Bei der Wiederholung dieses Versuches war nach 5 Tagen ein sehr geringes Wachsthum zu constatiren.

b. Mit pathogenen Spaltpilzen angestellte Versuche.9. Der *Bacill. cholerae asiaticae*.

Derselbe war nach 6 Tagen noch nicht gewachsen; auch nach 10 und 14 Tagen zeigten sich an der Cultur keine Spuren von Entwicklung.

9a. Eine mit demselben Krankheitserreger angelegte Stichcultur war nach 6 Tagen nicht gewachsen; ebenso wenig nach 10 und 14 Tagen.

10. Der *Bacill. Finkler-Prior's*.

Derselbe war nach 6 Tagen gut gewachsen und hatte die Gelatine etwas verflüssigt.

10a. Die Wiederholung des Versuches ergab dasselbe Resultat.

11. Der *Bacill. cholerae gallinarum*.

Derselbe war nach 7 Tagen deutlich gewachsen.

12. Der *Typhusbacillus*.

Derselbe war nach 7 Tagen nicht gewachsen und zeigte auch nach 10 und 14 Tagen keine Spur von Wachsthum.

13. Der *Bacill. pyocyaneus*.

Derselbe war nach 6 Tagen sehr deutlich gewachsen.

13a. Bei einer Wiederholung des Versuches war schon nach 5 Tagen merkliches Wachsthum zu constatiren.

14. Der *Staphylococcus pyogen. citreus*.

Derselbe zeigte nach 5 Tagen geringes Wachsthum; nach 10 Tagen hatte er sich stark entwickelt und die Gelatine verflüssigt.

14a. Ein zweiter Versuch ergab das gleiche Resultat: schon nach 5 Tagen zeigte sich geringes, aber deutliches Wachsthum.

15. Der *Staphylococcus pyogen. albus*.

Derselbe war nach 5 Tagen gut gewachsen, hatte jedoch die Gelatine nur in geringem Grade verflüssigt.

15a. Bei einem zweiten Versuch war nach 7 Tagen gute Entwicklung zu constatiren.

16. Der *Staphylococcus pyogen. aureus*.

Derselbe war nach 5 Tagen deutlich gewachsen und hatte dabei die Gelatine nicht verflüssigt.

17. Der *Streptococcus erysipelatis*.

Derselbe war nach 6 Tagen nicht gewachsen, auch nach 10 und 14 Tagen war keine Spur von Wachsthum zu erkennen.

17a. Der wiederholte Versuch ergab das nämliche Resultat: auch diesmal war der *Streptococcus* nach 10 und 14 Tagen nicht gewachsen.

18. Der Bacill. anthracis.

Derselbe war nach 7 Tagen sehr gering gewachsen; auch nach 14 Tagen war sein Wachsthum nicht deutlicher geworden.

19. Der Bacill. des Schweinerotthlaufs.

Derselbe war nach 6 Tagen nicht gewachsen; nach 10 Tagen nur sehr gering.

20. Der Bacill. der Mäusesepicämie.

Derselbe war nach 6 Tagen nicht gewachsen, nach 10 Tagen nur sehr gering.

Den drei letzten Versuchen ist hinzuzufügen, dass der Milzbrandbacillus, sowie die Erreger des Schweinerotthlaufs und der Mäusesepicämie ihr geringes Wachsthum erst zeigten, nachdem sie bei Registrirung der Resultate eine Zeit lang der Aussentemperatur ($+ 20^{\circ}$ C.) ausgesetzt gewesen waren. Ihre jedenfalls allein hierdurch bewirkte anfängliche Entwicklung, die ohnehin sehr gering war, machte späterhin keine Fortschritte.

c. Versuche mit Schimmel- und Sprosspilzen.

21. Das Oidium lactis.

Dasselbe war nach 6 Tagen sehr gut gewachsen.

22. Der Soorpilz (Oidium albicans.).

Derselbe war nach 6 Tagen noch nicht gewachsen, auch nach 10 Tagen noch nicht.

22 a. Die Wiederholung des Versuches ergab dasselbe Resultat: weder nach 5, noch nach 10 Tagen war der Soorpilz gewachsen.

23. Die Krankheitshefe.

Dieselbe war nach 7 Tagen deutlich gewachsen.

24. Die Unterhefe.

Dieselbe war nach 5 Tagen gering gewachsen.

Wie schon oben erwähnt, wurden von allen Culturen, ohne Rücksicht darauf, ob sie gewachsen waren oder nicht, mikroskopische Präparate angefertigt; diese liessen nirgends eine Aenderung der einzelnen Zellindividuen in Form oder Aussehen erkennen.

Die Culturen der Cholera, des Typhus, des Erysipels und des Milzbrands (über letzteren siehe oben) wurden, nachdem sie 3 Wochen im Eisschrank gewesen waren, ohne zu wachsen, in Zimmertemperatur gebracht und wuchsen hier binnen kurzer Zeit ganz in gewöhnlicher Weise, weder langsamer noch rascher.

Das Gesamtergebniss der Versuche lässt sich nun in Folgendem zusammenfassen:

1. Bei einer Temperatur von etwa 7°C. , wie sie in guten Kellern oder Eisschränken herrscht, gedeihen auf den Nährböden: Fleisch, Milch, Kartoffeln, Gelatine eine ganze Reihe von Mikroorganismen und zwar Schimmel-, Spross- und Spaltpilze.

2. Zu ihrer Entwicklung bedürfen diese Mikroorganismen bei der gegebenen Temperatur einer längeren Zeit als bei Zimmertemperatur; ihre Entwicklung bis zum Sichtbarwerden der Colonien für das unbewaffnete Auge dauert im Durchschnitt 5—7 Tage.

Darnach vermag die gegebene Temperatur das Wachsthum von Mikroorganismen entschieden zu verlangsamen.

3. Die Entwicklung völlig zu verhindern, ist diese Temperatur nur bei wenigen im Stande, unter denen vornehmlich zu nennen sind: Die Erreger der Cholera, des Typhus, des Erysipels.

4. Die Wachstumsfähigkeit diesen Mikroben zu nehmen, vermag die in Frage stehende Temperatur auch bei mehrwöchentlicher Einwirkung nicht.

5. Endlich kann nach unseren Versuchen nur bestätigt werden, dass es, wie Forster und Fischer beschreiben, im Sielwasser und in den oberen Erdschichten eine ganze Anzahl von Bacterien giebt, die noch bei Eisschmelztemperatur sich zu entwickeln vermögen.

Es ist mir leider versagt, an dieser Stelle dem Herrn Professor Uffelmann, der mir die Anregung zu vorliegender Arbeit gab und mir bei derselben Rath und Unterstützung in reichem Masse gewährte, meinen Dank auszusprechen: Ein früher Tod hat ihn dahingerafft.



